FACULTE DE MEDECINE
BROUSSAIS HOTEL-DIEU
UNIVERSITE PARIS VI

ANNEE 1973

THESE

N° 34

POUR LE

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

PAR

Danielle DEROUINEAU

née le 14 janvier 1949 à SAINT LAURENT DES EAUX (41)

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE. . . . . .

LES INCLUSIONS INTRANUCLEAIRES DE LA MALADIE DE WALDENSTRÖM
SIGNIFICATION BIOLOGIQUE ET VALEUR DIAGNOSTIQUE

Président : M. J. BOUSSER, Professeur

EDITIONS MEDICALES EMU ET UNIVERSITAIRES

40, rue Pascal - PARIS XIIIe

FACULTE DE MEDECINE
BROUSSAIS HOTEL-DIEU
UNIVERSITE PARIS VI

ANNEE 1973

THESE

N°

POUR LE

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

PAR

Danielle DEROUINEAU

née le 14 janvier 1949 à SAINT LAURENT DES EAUX (41)

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE. . . . . .

LES INCLUSIONS INTRANUCLEAIRES DE LA MALADIE DE WALDENSTRÖM
SIGNIFICATION BIOLOGIQUE ET VALEUR DIAGNOSTIQUE

Président : M. J. BOUSSER, Professeur

EDITIONS MEDICALES EM ET UNIVERSITAIRES

40, rue Pascal - PARIS XIIIe

UNIV.
LEIDEN,
BIBL.

A Monsieur le Professeur J. DELARUE

IN MEMORIAM

A Monsieur le Professeur J. BOUSSER

Qui m'a fait le grand honneur d'accepter la Présidence de cette Thèse.

Qu'il veuille bien trouver ici le témoignage de ma respectueuse reconnaissance.

A mes Parents

en témoignage de mon Affection

A ma Famille

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549212_0011

A Monsieur le Professeur J. DIEBOLB

Qui m'a confié le sujet de cette Thèse et en a permis la réalisation par ses précieux conseils

Qui m'a fait l'honneur de m'accepter dans son Service

En témoignage de ma profonde reconnaissance

A Messieurs REYNES, KALIFAT

Avec mes remerciements

A Monsieur CAMILLERI

A mes Patrons d'Externat

Monsieur le Professeur BARIETY

Monsieur le Professeur PATEL

Monsieur le Professeur DEROT

Monsieur le Professeur GRIVAUX

Monsieur le Professeur FASQUELLE

A Monsieur le Docteur R. LACOURBE, Médecin Directeur de l'Hôpital International de l'Université de Paris,

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance

A Monsieur le Professeur F. DUBOIS

A Monsieur P. CORDIER

Qui m'ont acceptée dans leur Service

L E S I N C L U S I O N S I N T R A - N U C L E A I R E S

DE LA MALADIE DE WALDENSTRON

SIGNIFICATION BIOLOGIQUE ET VALEUR DIAGNOSTIQUE

P L A N

I - INTRODUCTION

II - MATERIEL ET METHODES

III - ASPECT MORPHOLOGIQUE DES VACUOLES INTRA-NUCLEAIRES

III- 1) MICROSCOPIE OPTIQUE

III- 2) IMMUNOFLUORESCENCE

III- 3) MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

III- 4) FREQUENCE D'OBSERVATION

IV - COMMENTAIRES

IV- 1) TRAVAUX ANTERIEURS

IV- 2) SIGNIFICATION BIOLOGIQUE

V - CONCLUSION

BIBLIOGRAPHIE

I - INTRODUCTION

La maladie définie en 1944 par Waldenström, est un syndrome lympho-plasmo-prolifératif. Elle fut longtemps ignorée ou confondue avec d'autres syndromes lympho-prolifératifs en raison de ses signes cliniques.

Son diagnostic positif repose essentiellement sur la découverte dans le sang d'un pic anormal des β 2 globulines dont l'immuno-électrophorèse montre la nature IgM.

L'étude de biopsies médullaires ou ganglionnaires permet parfois un diagnostic aisé sur la reconnaissance d'une infiltration par des cellules lympho-plasmocytaires polymorphes et caractéristiques. Toutefois, il peut être parfois difficile d'affirmer le diagnostic de maladie de Waldenström sur les préparations histologiques. Un élément morphologique très important est représenté alors par l'existence de vacuoles sphéroïdes PAS (+), se projettant sur l'aire nucléaire des cellules en prolifération.

Décrites pour la première fois par SCHAMAUN en 1954, ces vacuoles ont fait l'objet d'un certain nombre de travaux. LEHLBACH en 1957, DUTCHER et FAHEY en 1959 se sont intéressés à leur histochimie. FRUHLING et Collaborateurs en 1960, BESSIS en 1961 et 1963, BRITTIN et Collaborateurs en 1963 et KUHN en 1967 ont étudié et défini leur ultrastructure.

A propos d'une série de 40 maladies de Waldenström, étudiées sur biopsies et ponctions dans le Labo-

ratoire d'Anatomie Pathologique de l'Hôtel Dieu, il nous a paru intéressant d'étudier la fréquence de ces vacuoles, leurs différents aspects morphologiques et leur signification pathologique.

II - MATERIEL et METHODES

1) - MATERIEL -

L'étude des vacuoles PAS (+) intra-nucléaires a été faite sur 40 cas de maladie de Waldenström. Les prélèvements étaient d'origines multiples et se répartissaient comme suit :

- 36 biopsies médullaires, 10 biopsies ganglionnaires, 6 biopsies hépatiques, 3 prélèvements spléniques, 2 biopsies de peau, 1 biopsie de col utérin, 2 biopsies de cordes vocales, et 4 autopsies.

TABLEAU I

ORIGINE DES PRELEVEMENTS	NOMBRE DE PRELEVEMENTS ETUDIES
Biopsies Médullaires	36
Biopsies Ganglionnaires	10
Biopsies Hépatiques	6
Splénectomies	3
Biopsies de la Peau	2
Biopsies de Col Utérin	1
Biopsies de Cordes Vocales	2
AUTOPSIES	4

La plupart des malades ont donc eu une biopsie médullaire, quelques uns : biopsies médullaires et ganglionnaires. Les autres prélèvements sont : soit des prélèvements systématiques au cours d'intervention pour splénomégalies, soit des prélèvements de bilan de Maladie de Waldenström en cours ; soit, enfin, des prélèvements pour des lésions d'étiologie inconnue qui n'ont été rapportées à la Maladie de Waldenström que sur l'aspect des coupes histologiques.

L'étude des 4 autopsies a été systématique sur tous les viscères comme le veut la méthode. Dans certains cas, les localisations des lésions de Waldenström étaient variées.

Voici la fréquence avec laquelle les diverses localisations ont été retrouvées :

T A B L E A U II

ORGANES	Nombre d'AUTOPSIES pour lesquelles on a retrouvé des Lésions de Maladie de Waldenström sur ce même organe.
Ganglion	4
Moelle Osseuse	4
Foie	3
Rein	3
Prostate	1
Rate	1
Myocarde	1
Poumon	1
Langue	1
Méninges	1

2) - METHODES -

a) = Colorations histologiques

Les colorations effectuées ont été, en général, au nombre de 4 pour tous les prélèvements biopsiques et autopsiques :

- Hématéîne - Eosine - Safran
- Giêmsa lent
- la coloration à l'Acide périodique de Schiff selon la méthode de Hotchkiss Mac Manus, est la plus intéressante puisqu'elle permet la reconnaissance des vacuoles intra-nucléaires. Le PAS colore en rouge vif les substances glycoprotéiques. Le test à l'amylase ou à la salive, effectué dans un certain nombre de cas, est resté négatif ; la coloration rouge persistante montre qu'il s'agit bien de glycoprotéines et non de glycogène.

Dans 10 cas, d'autres colorations ont été effectuées : réaction de Feulgen, coloration par le vert de Méthyl - pyronine, acridine-orange (avec examen en lumière ultraviolette).

L'imprégnation argentique selon la méthode de Gordon Sweet, permet l'étude des fibres de réticuline.

b) - Immunofluorescence -

L'étude en immunofluorescence a été faite dans 9 cas :

- 7 biopsies médullaires
- 1 biopsie hépatique
- 1 prélèvement splénique

Après congélation dans l'isopentane refroidi par l'azote liquide, les fragments, prélevés précocement, sont coupés

au cryostat à -20°. Les coupes sont fixées à l'acétone pure. Deux coupes sont préparées pour chaque antisérum fluorescent anti IgA, anti IgG, anti IgM, préparés sur chèvre.

Le temps d'application des sérums sur les coupes est de 30 minutes. On pratique trois lavages en eau physiologique tamponnée à PH 7,23. Le premier au jet de pissette, les deux autres sont des bains de cinq minutes chacun.

Les tests de contrôle habituels sont effectués par lames témoins, réaction d'extinction. La pureté des antisérums commerciaux a été contrôlée par immunoélectrophorèse contre des sérums de myélome et de maladie de Waldenström connus. En outre, une lame non utilisée pour l'immunofluorescence est colorée par l'hématéine-éosine.

Une cause d'erreur est représentée par les éosinophiles qui sont autofluorescents. Si leur morphologie peut être trompeuse parfois, leur siège et les caractères de leur cytoplasme sont différents de ceux des cellules lympho-plasmocytaires. Leurs granulations très réfringentes sont très aisément reconnues lorsque l'on passe de la lumière ultraviolette à la lumière blanche, en diaphragmant.

Les lames sont examinées en fond clair, sur un microscope Ortholux Leitz (lampe Osram HBO 200, filtres d'excitation BG 12 et BG 38, filtre d'anit K 530).

c) - Microscopie électronique -

L'étude en microscopie électronique porte sur 11 prélèvements de ganglions, de moëlle osseuse ou de rate. Les prélèvements sont fixés au glutaraldehyde, post-fixés à l'acide osmique. Ils sont inclus en Epon selon la technique de Luft. Les

coupes ultrafines sont effectuées sur un ultramicrotome Porter Blum

Après coloration par l'acétate d'uranyl et le plomb, les coupes sont examinées sur un microscope électronique Siemens Elmiskop 101.

III - A S P E C T M O R P H O L O G I Q U E

DES VACUOLES INTRA-NUCLEAIRES

Nous étudierons l'aspect morphologique des vacuoles intra-nucléaires avec les colorations usuelles, l'immuno-fluorescence et la microscopie électronique.

1 - MICROSCOPE OPTIQUE

2 - IMMUNOFLUORESCENCE

3 - MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

4 - FREQUENCE d'OBSERVATION

1) - Microscope optique -

Ces inclusions sont généralement sphériques, homogènes, siégeant dans le noyau de cellules de type varié.

Ce sont : - soit des lymphocytes : petites cellules à noyau arrondi, dense, homogène, à cytoplasme peu abondant réduit à une couronne périnucléaire faiblement cyanophile et contenant parfois quelques granulations azurophiles.

- soit des plasmocytes, cellules caractérisées par leur cytoplasme basophile et leur noyau ovalaire à chromatine à disposition radiaire.

- soit des cellules ambigües lympho-plasmocytaires.

Lors de l'examen de coupes colorées à l'hématéïne-éosine-safran, à très fort grossissement, on peut déjà apercevoir les inclusions intra-nucléaires sous forme de "vacuoles" à limites nettes, dont le centre est occupé par une substance faiblement éosinophile. Elles peuvent être confondues sur cet aspect avec les "nuclear pockets" ou poches nucléaires rencontrées dans les cellules malignes, qui n'ont aucune spécificité et sont PAS (-)

La coloration au Giêmsa lent leur fait prendre une teinte gris-violet ou bleu-verdâtre.

Le PAS les colore en rouge vif. La résistance observée à l'action de la salive et de l'amylase, montre que ces vacuoles sont faites de substances polysaccharidiques neutres sans glycogène.

La réaction de Feulgen (mise en évidence de l'ADN) y est négative ainsi que la coloration au vert de Méthyl -Pyronine.

La forme de ces vacuoles est variablee, le

plus souvent sphéroïdale, parfois ovalaire, arrondie.

Leur taille varie également : de la taille d'environ un nucléole jusqu'à celle du noyau. Il peut alors être très difficile d'affirmer leur siège intra-nucléaire. On s'attachera à l'aide des variations de la vis micrométrique à mettre en évidence une fine couronne chromatinienne , condensée, péri vacuolaire.

Ces inclusions sont généralement cernées d'un espace clair qui les isole du restant de la chromatine nucléaire, et permet plus aisément leur découverte.

Le siège intra-nucléaire de ces vacuoles est variable. Surtout quand elles sont petites, elles apparaissent isolées dans la chromatine nucléaire sans aucune relation avec le cytoplasme. Parfois, bien que situées de façon centrale, on note un pont incolore PAS (-) les rattachant au cytoplasme. Dans d'autres cas, elles peuvent être à la fois intra-nucléaires et intra-cytoplasmiques, à cheval sur la membrane nucléaire.

Leur nombre est variable d'un noyau à l'autre, d'une coupe à l'autre, d'un organe à l'autre, d'un malade à l'autre, et chez le même malade, il est fréquent lors de prélèvements multiples pour une suspicion de maladie de Waldenström, de ne retrouver de vacuoles que sur un prélèvement. Le plus souvent isolées, elles sont parfois au nombre de 2 à 3. Quand elles sont nombreuses sur tous les prélèvements ou sur une coupe, elles permettent de porter aisément le diagnostic avec une quasi certitude. Si elles sont rares ou absentes, devant une suspicion de maladie de Waldenström, on s'attachera à examiner minutieusement la lame à X 200-400, à répeter les coupes aux divers niveaux des prélèvements, voire à répéter les prélèvements.

La coloration élective de ces vacuoles est donc la coloration au PAS selon la méthode de Hotchkiss Mac Manus

mais on peut également les reconnaître sur une coloration à l'acridine-orange qui les teinte en vert clair sur des noyaux bruns.

On note également, associées aux inclusions intra-nucléaires ou isolées, des mottes PAS (+) intra-cytoplasmiques de taille variable, représentant un stockage des produits de secrétion. La découverte de telles mottes glycoprotéïques n'a pas la valeur diagnostic des vacuoles intra-nucléaires. En effet, des amas identiques peuvent se rencontrer dans le cytoplasme d'histiocytes macrophages non seulement dans la maladie de Waldenström, mais aussi dans la leucose lymphoïde chronique et certains lympho-sarcomes.

Enfin, le cytoplasme de certaines cellules se colore de façon diffuse au PAS. Il s'agit généralement de plasmocytes typiques.

2) - Immunofluorescence -

L'application d'un sérum spécifique anti IgM révèle toujours une fixation sur les inclusions sphéroïdales dans les cellules lymphoïdes, plasmocytaires, lympho-plasmocytaires. Ces inclusions sont donc constituées d'IgM. Cette immunoglobuline est la plus riche en glycoprotéïnes, ce qui explique le caractère PAS (+) des inclusions intra-nucléaires.

Le cytoplasme des cellules est généralement en plus marqué en même temps que le noyau. Toutefois, quelques cellules possédant des inclusions intra-nucléaires ne montrent aucune fixation cytoplasmique à l'antisérum marqué à l'isothiocyanate de fluoresceïne. C'est ainsi que les études en immunofluorescence permettent de reconnaître trois aspects différents :

1° des cellules lymphoïdes ou lympho-

plasmocytaires ou plasmocytaires avec une fixation du sérum anti IgM uniquement intra-cytoplasmique soit diffuse, soit au niveau des mottes de taille variable

2° des cellules de même type ne montrant aucune fixation intra-cytoplasmique mais un nombre variable de vacuoles intra-nucléaires marquées par l'antisérum.

3° - des cellules semblables possédant les deux types de sites de fixation de l'antisérum marqué.

Dans une observation, une transformation "sarcomateuse" a été suspectée cliniquement sur la découverte d'une augmentation brutale de certains ganglions inguinaux avec altération de l'état général. L'étude cytologique et histologique a confirmé cette impression en montrant l'existence de cellules de grande taille sans caractère lymphoc ytaire ni plasmocytaire, mais ressemblant à des immunoblastes. En immunofluorescence, les cellules de ce ganglion ne montraient aucune inclusion intra-nucléaire et rarement une fixation cytoplasmique. Dans le ganglion inguinal du côté opposé, au contraire, les cellules avec fixation à la fois cytoplasmique et intra-nucléaire, étaient nombreuses.

Des inclusions prenant le sérum anti IgM ont été décrites dans tous les cas étudiés sauf dans 2 biopsies médullaires ou seule une fixation cytoplasmique a été vue.

3) - Etude ultrastructurale des inclusions intra-nucléaires -

Une étude ultrastructurale a été pratiquée sur plusieurs ganglions lymphatiques prélevés chez des malades atteints de syndrome lympho-plasmocyto-prolifératif sécrétant et non sécrétant .

Certaines cellules d'aspect plasmocytaire avec un réticulum endoplasmique bien développé, souvent dilaté, contenant dans la lumière un matériel osmiophile floconneux, présentent des inclusions intra-nucléaires. Ces inclusions sont de deux types : vacuoles intra-nucléaires et corps nucléaires.

1° - Vacuoles intra-nucléaires

En raison du petit nombre de cellules examinées en microscopie électronique, les vacuoles intra-nucléaires sont rares, leur taille est variable. Certaines, très volumineuses, correspondent manifestement aux vacuoles observées en microscope optique et en immunofluorescence. La lumière contient dans certains cas un matériel osmiophile floconneux correspondant sans doute à la secrétion d'immunoglobulines. Ces vacuoles sont tantôt isolées dans le noyau, sans connexions cytoplasmiques, tantôt marginales, directement reliées au cytoplasme. Les vacuoles marginales, bordées par la membrane nucléaire interne, communiquent avec la citerne péri-nucléaire dilatée, et, dans certains cas, avec le réticulum endoplasmique. Le matériel floconneux observé dans la lumière de la citerne péri-nucléaire et dans le réticulum endoplasmique, se retrouve également dans la vacuole intra-nucléaire. Nous avons donc interprété ces images comme représentant une invagination intra-nucléaire de la citerne et du réticulum ; les coupes tangentielles expliquant que dans certains cas la vacuole semble isolée dans le noyau.

2° - Corps nucléaires

Des corps nucléaires de type simple, mais surtout complexes de type IV ont été observés (BOUTEILLE - S.R KALIFAT - A.M DUPUY COIN - J. DELARUE 1967). Ces corps nucléaires sont de petite taille et montrent la structure habituelle, fila-

menteuse et granulaire. Il a surtout été observé des amas plus volumineux et osmiophiles correspondant sans doute à de la chromatine (A.M DUPUY COIN - S.R KALIFAT -M.BOUTEILLE 1971)

Exceptionnellement, les corps nucléaires présentent des structures plus complexes parfois micro-vacuolaires. Nous n'avons jamais observé d'images transitionnelles entre les corps nucléaires et les volumineuses vacuoles précédemment décrites.

EN RESUME :

I - Le noyau de certaines cellules plasmocytaires à réticulum endoplasmique riche et sécrétant, présente deux types d'inclusion. Les unes volumineuses et vacuolaires correspondent à une invagination de la citerne péri-nucléaire et du réticulum endoplasmique dilaté dans le noyau, les autres à des corps nucléaires précédemment décrits dans la littérature (M. BOUTEILLE) avec comme particularité des amas de chromatine et parfois des micro-vacuoles. Il n'a pas été observé de formation des volumineuses vacuoles intranucléaires à partir de corps nucléaires. Ces grandes vacuoles correspondent aux images observées en microscope optique et en immunofluorescence.

II - Tous les syndromes lympho-plasmo-prolifératifs examinés, qu'ils soient sécrétants ou non, présentent ces vacuoles.

Les corps nucléaires sont enfin souvent nombreux et complexes dans les syndromes secrétoires de type endocrine. Il est possible qu'il en soit de même au cours de la sécrétion d'immunoglobulines.

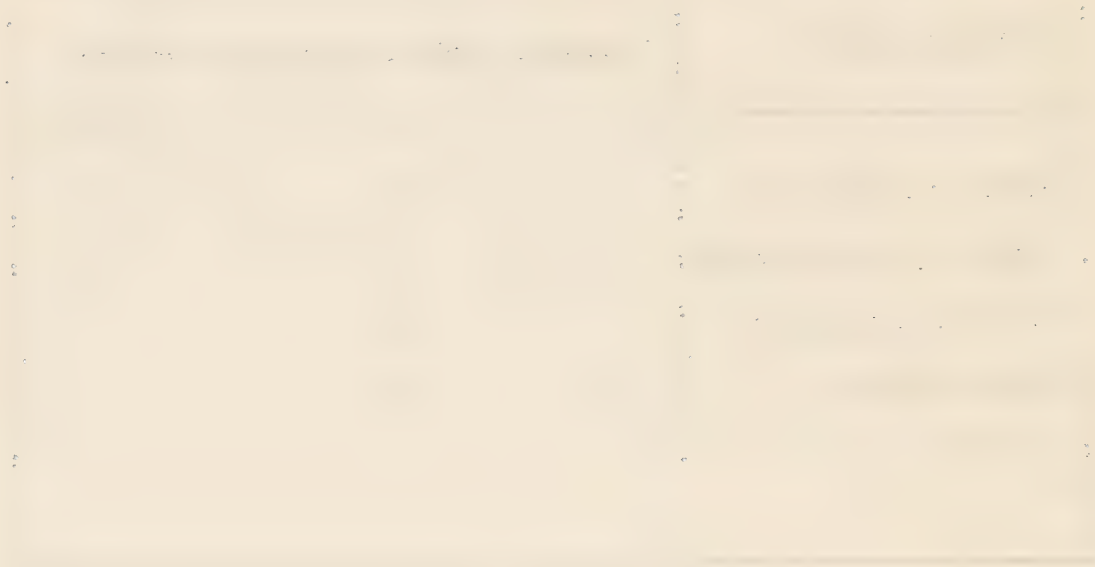
4) - Fréquence d'Observation -

La fréquence d'observation des vacuoles intra-nucléaires est résumée dans le tableau suivant :

T A B L E A U III

PRELEVEMENTS	FREQUENCE d'observation des Vacuoles
Biopsies Médullaires	21
Biopsies Ganglionnaires	8
Biopsies Hépatiques	4
Splénectomies	2
Autopsies	4

Dans 15 cas, le diagnostic de macro-globulinémie de Waldenström était connu ou évoqué sur la présence d'un pic IgM. Dans 13 de ces cas, on a retrouvé la présence d'une ou plusieurs vacuoles de siège intra-nucléaire PAS (+).



Dans 1 cas, c'est l'étude d'une biopsie de col utérin qui a permis d'évoquer le diagnostic de maladie de Waldenström, diagnostic confirmé par les tests biologiques et une biopsie médullaire.

Dans 3 cas, la découverte de vacuoles intra-nucléaires dans les cellules de l'infiltration a permis de corriger un diagnostic clinique et hématologique de leucémie lymphoïde chronique.

Dans 18 cas, les biopsies médullaires et ganglionnaires ont été faites systématiquement chez des sujets amaigris, anémiés, asthéniques, présentant des adénopathies ou une grosse rate. Dans 12 cas, on a retrouvé des vacuoles intra-nucléaires, dans les autres cas, le diagnostic a été évoqué sur le polymorphisme de l'infiltration cellulaire. Les diagnostics ont été confirmés par la recherhce du syndrome biologique.

Enfin, dans 2 cas, l'existence de vacuoles intra-nucléaires et le polymorphisme de l'infiltration ont fait évoquer le diagnostic de macroglobulinémie de Waldenström. Or, l'étude du syndrome biologique était négative. La surveillance continue de ces malades a montré dans les années (2) qui ont suivi les premières biopsies, l'apparition d'un petit pic siégeant dans les $\beta 2$ globulines, pic qui, depuis, va régulièrement en s'accentuant.

Il existe donc des cas de maladie de Waldenström non décelables cliniquement, secrétant uniquement à l'échelle cellulaire. On peut donc se demander si la recherche de vacuoles intra-nucléaires PAS (+) ne permettrait pas de prévoir l'apparition du syndrome biologique de la maladie de Waldenström.

Enfin, les 4 autopsies étudiées ont permis de retrouver les lésions de macroglobulinémie de Waldenström sur de multiples prélèvements avec, cependant, une nette prédominance sur la moelle osseuse, les ganglions. Il parait donc justifier de faire devant toute suspicion de maladie de Waldenström, une biopsie médullaire et, quand cela est possible, une biopsie ganglionnaire. Toutefois, on remarque que les lésions observées, l'ont été sur des prélèvements d'origine très diverse.

Il est donc possible, sur de multiples prélèvements, d'évoquer le diagnostic de maladie de Waldenström sur la présence de vacuoles intra-nucléaires.

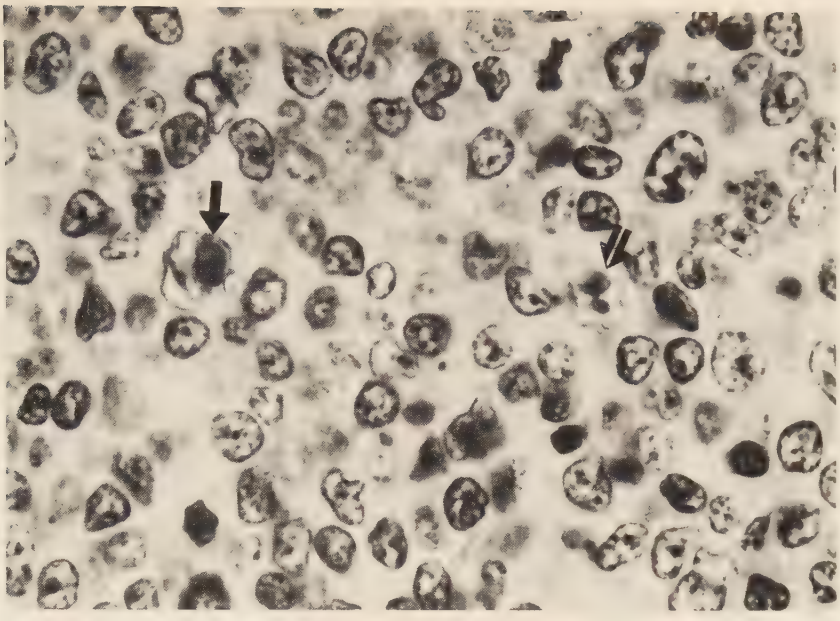


Fig. 1 -

Infiltration lympho-plasmocytaire d'un espace porte. Dans la partie gauche du champ, une cellule à grand noyau clair présente une volumineuse vacuole PAS ⊕ (↗). Dans la partie droite du champ une cellule plus petite contient une vacuole PAS ⊕ se projetant en partie sur le noyau et en partie sur le cytoplasme (⇗).

Biopsie hépatique - PAS - G : 1500 x

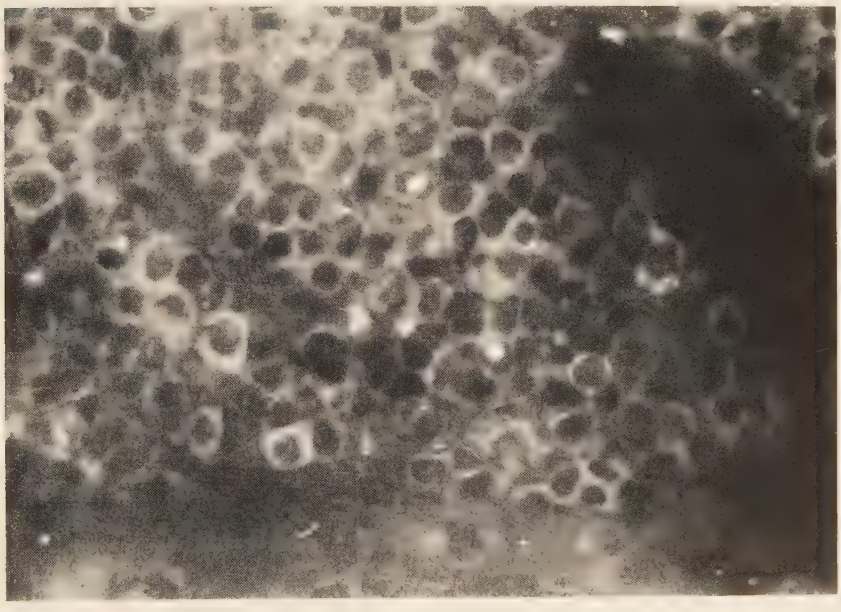


Fig. 2 -

Etude en immunofluorescence d'un infiltrat lympho-plasmocytaire hépatique.
Le sérum anti IgM marqué par l'isothiocyanate de fluorescéine s'est fixé sur le cytoplasme de la plupart des cellules et sur 2 vacuoles bien visibles.

G : 1000 x

II - COMMENTAIRES -

1 - TRAVAUX ANTERIEURS -

Les vacuoles ont été décrites pour la première fois en 1954 par SCHAMAUN.

DUTCHER - FAHEY ont observé une ou plusieurs vacuoles également PAS (+). Il leur a paru que ces vacuoles de siège nucléaire, pouvaient s'ouvrir et déverser leur contenu dans le cytoplasme. Ils ont surtout noté une différence avec des inclusions virales.

Les études histochimiques faites par ZLOTNICH, LAROCHE, DREYFUS, ZOLLINGER, ont permis la connaissance et la confirmation de la nature glycoprotéïque des dépôts cellulaires, interstitiels et vasculaires.

Les Etudes en Microscopie électronique ont montré l'absence de rapport avec le nucléole, des invaginations cytoplasmiques, une dilatation de l'espace péri-nucléaire (FRUHLING). Ce qui a permis à cet auteur de penser que les cellules intermédiaires lympho-plasmocytaires et l'existence de matériel glycoprotéïque PAS (+) dans les cellules, les tissus interstitiels et les vaisseaux, étaient deux critères morphologiques fondamentaux de la maladie de Waldenström.

BURTIN a décrit des granulations de projections nucléaires, des inclusions du cytoplasme dans les noyaux, mais il a noté que certaines vacuoles étaient certainement intra-nucléaires.

BESSIS n'a pu rattacher les cellules ambigües ni aux lymphocytes ni aux plasmocytes. Il n'a pas visualisé de cellules secrétant de macroglobuline.

HARRISSON, en 1972, insiste sur le fait que ces vacuoles sont caractéristiques par leur fréquence plus grande que dans les autres maladies.

RAPPAPORT a également insisté sur la valeur diagnostique des vacuoles intra-nucléaires PAS (+) de la maladie de Waldenström.

2 - SIGNIFICATION BIOLOGIQUE -

La découverte de la maladie de Waldenström est liée au développement des méthodes d'analyse des protéines sanguines et à l'application à la clinique de l'ultracentrifugation et de l'immuno-électrophorèse.

Le diagnostic est essentiellement dans les cas secrétants, un diagnostic biologique et hématologique.

On observe une augmentation des protides sanguins avec une baisse relative de l'albuminémie. La certitude diagnostique est obtenue par :

- Un pic anormal à l'électrophorèse situé dans la région des $\beta 2$ globulines, l'immuno-électrophorèse montrant qu'il s'agit d'une IgM.

- L'ultracentrifugation met en évidence l'existence de composants lourds.

Partant de cette notion biologique, on s'est demandé quelles étaient les cellules sécrétant l'IgM en excès. L'examen histologique montre l'existence d'une infiltration polymorphe composée de petits lymphocytes typiques, de plasmocytes matures et de cellules ambigües caractéristiques. Or, on connait la fonction importante des plasmocytes dans les réactions anticorps-antigènes. On a donc pensé que les plasmocytes et les cellules intermédiaires lymphoplasmocytaires étaient à l'origine de l'hypersécrétion en IgM.

Les travaux récents sur les Immunoglobulines de membranes (SELGMAN-PRUDHOMME) ont montré qu'il s'agit d'une prolifération de B Lymphocytes.

La découverte de matériel PAS (+) dans certaines cellules (cytoplasme et noyau) est apparue comme la confirmation de la présence d'un matériel sécrété et stocké dans les cellules.

Les qualités de ce matériel ont permis de connaître sa nature. La réaction de Feulgen (-) diminue la possibilité d'une nature ADN. Eosinophile, il se colore par la méthode de Hotchkiss Mac Manus. L'hématoxyline acide phosphorique tungstique lui donne une teinte rouge orangé. Les réactions au tétrazonium couplé et au réactif de Millon sont positives.

Il s'agit donc d'une glycoprotéïne riche en mucopolysaccharides.

C'est surtout l'étude en immunofluorescence avec des sérums anti Ig G, anti Ig A, anti Ig M, montrant la fixation sur ce matériel de l'anti Ig M qui démontre que la substance glycoprotéïque est une Ig M et l'on sait que l'immunoglobuline de type M est celle qui est la plus riche en mucopolysaccharides.

Les vacuoles intra-nucléaires PAS (+) sont

donc la traduction visible en microscopie d'une accumulation anormale d'Ig M et probablement d'une sécrétion anormalement rapide et exagérée.

En microscopie électronique, il n'est pas possible de visualiser les macro-globulines à l'état cristallin. Toutefois, les cellules observées sont visiblement secrétante : la plupart des cellules ont un ergastoplasme bien développé, d'autres sont intermédiaires.

Une vacuole se présente en microscopie électronique comme une dilatation de l'ergastoplasme.

Dans la maladie de Waldenström, la dilatation correspond à une anomalie dans la production de l'immuno-globuline avec accumulation excessive dans l'ergastoplasme au contact du noyau soit par production excessive trop rapide, soit par excrétion trop lente.

En définitive, les vacuoles intra-nucléaires représentent des aspects de stockage des immunoglobulines IgM dans des sacs ergatoplasmiques faisant hernie à l'intérieur des noyaux des éléments lympho-plasmocytaires qui prolifèrent. Le caractère PAS (+) de ces vacuoles est dû à la présence de l'IgM riche en glycoprotéïne neutre. Cette coloration simple prend ainsi une très grande valeur pour le diagnostic histopathologique de la maladie de Waldenström. Toute prolifération d'allure lymphoïde possédant de telles vacuoles intra-nucléaires est une maladie de Waldenström. Ces vacuoles permettent ainsi de faire la différence avec une leucémie lymphoïde chronique ou un lymphosarcome.

La découverte de vacuoles PAS (+) dans le noyau de plasmocytes plus ou moins matures est également possible ; elle n'a pas alors la même valeur spécifique. En effet, de telles vacuoles peuvent être découvertes dans des cellules plasmocytaires non seulement dans la maladie de Waldenström, mais aussi dans deux autres états pathologiques :

1° - Au cours des myélomes à IgA, de telles vacuoles peuvent être rencontrées, l'immunoglobuline IgA étant également une glycoprotéïne mais moins riche en sucre que l'IgM. De ce fait, les vacuoles sont plus rares et souvent moins fortement PAS (+). Mais ici la prolifération est exclusivement plasmocytaire sans cellules lymphocytaires ce qui permet de ne pas faire d'erreur avec la maladie de Waldenström.

2° - La polyarthrite rhumatoïde peut présenter des infiltrats lympho-plasmocytaires avec présence dans les plasmocytes de vacuoles PAS (+). Un tel aspect s'observe essentiellement dans les maladies rhumatoïdes avec présence dans le sérum d'une grande quantité de facteur rhumatoïde qui est, rappelons-le, une IgM. Toutefois, aucun problème diagnostic ne se pose

avec la maladie de Waldenström, car, c'est essentiellement dans les infiltrats inflammatoires de synoviales que se rencontrent des cellules avec vacuoles PAS (+), donc aucune erreur possible avec la maladie de Waldenström.

Ainsi, la découverte de vacuoles PAS (+) dans les noyaux de cellules d'allure lymphoïde est un très grand apport pour le diagnostic histopathologique de la maladie de Waldenström. Cherchées très attentivement, elles sont retrouvées dans 75 % des prélèvements biopsiques des divers tissus. Leur valeur est si grande qu'elles ont permis de porter le diagnostic de maladie de Waldenström à deux reprises (DIEBOLD J.) chez des malades présentant un syndrome lympho-prolifératif sans élévation du taux sanguin des IgM. Le diagnostic a été confirmé par l'immunofluorescence et surtout par l'apparition après cette phase sécrétante mais non excrétante d'une élévation progressive des IgM sériques avec apparition d'un pic minimum au bout de deux ans d'évolution.

V - CONCLUSION

L'étude histopathologique des vacuoles intra-nucléaires de la maladie de Waldenström a été faite au Laboratoire Central d'Anatomie Pathologique de l'Hôtel Dieu, sur 40 cas. La répartition et l'origine des prélèvements a été la suivante : 36 biopsies médullaires, 10 biopsies ganglionnaires, 3 prélèvements spléniques, 5 biopsies hépatiques, 2 biopsies de cordes vocales, 1 biopsie du col utérin et 4 autopsies.

Chez 31 malades, on a découvert sur un ou plusieurs prélèvements, la présence de vacuoles de siège intra-nucléaires fortement PAS (+). Le contenu de ces vacuoles est donc glycoprotéïque. Leur étude en immunofluorescence a permis de les rattacher à la présence d'Ig M. Dans 4 cas étudiés au microscope électronique, ces vacuoles apparaissent soit comme des dilatations de la citerne péri-nucléaire, soit comme des invaginations intra-nucléaires du cytoplasme avec présence de sacs ergastoplasmiques. A côté de ces vacuoles à contenu protéïque, se rencontrent des "poches nucléaires" ou "nuclears pockets" PAS négatif retrouvées dans d'autres cellules malignes.

La fréquence avec laquelle s'observent ces vacuoles intra-nucléaires PAS (+) sur des prélèvements venant de multiples organes, en fait un élément important pour le diagnostic histopathologique de maladie de Waldenström ; c'est dire la nécessité de les rechercher systématiquement dans tout syndrome lympho-prolifératif en pratique courante.

Vu, le Président de Thèse :

Professeur J. BOUSSER

Vu, le Doyen de la Faculté :

Professeur P. MILLIEZ

Vu et Permis d'Imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris

R. MALLET

B I B L I O G R A P H I E

-:-:-:-:-:-:-

- BESSIS M.

Ultrastructure of lymphoïd and plasma cells in relation to globulin and antibody formation

Labor. Investig. 1961 10, 1040 - 1067

- BESSIS M. - J. BRETON GORIUS et J.L. BINET

Etude comparée du plasmocytome et du syndrome de Waldenström - Examen au microscope électronique.

Nvelle Rev. Fr. d'Hématologie

1963 3, 2, 159 - 184

- M. BOUTEILLE - S.R. KALIFAT and J. DELARUE

Ultrastructural variations of nuclears bodies in human diseases 1966

- BRITTIN G.M. - TANAKA Y. - BRECHER G.

Intranuclear inclusions in multiple myeloma and macroglobulinemia.

Blood 1963 21, 335 - 351

- BURNS E. - B.L. SOLOFF - C. HANNA et D.F. BUXTON

Nuclear pockets associated with the nucleous in normal and neoplastic cells.

Cancer Res. 1971 31, 159 - 166

- BURTIN P. - BUFFE D.

Etude en immunofluorescence des ganglions de la macroglobulinémie de Waldenström.

Ann. Biol. Clin. 1962 20, 919 - 923

- DIEBOLD J. - R. ZITTOUN - J.M FINE - G. TRICOT - J.P CAMILLERI F. SIMON - M. ALCALAY et J. BOUSSER

A propos d'un cas de maladie de Waldenström non secrétant

Nvelle Rev. Fr. d'Hématologie

1971 XI 3, 429 - 433

- A.M DUPUY COIN - S.R. KALIFAT and M. BOUTEILLE

Nuclear bodies as Proteinaceous structures containing ribonucleoproteins

1971

- DUTCHER T.F. - FAHEY J.L

The histopathology of the macroglobulinémie of Waldenström

J. Nat. Cancer Inst. 1959 22, 887 - 917

- DUTCHER T.F. - FAHEY J.L

Immunocytochemical demonstration of intranuclear localization of 18 S γ macroglobulin in macroglobulinémia of Waldenström

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1960 103 - 432

- FLANDRIN G. - RIPAULT J.

Etude cytologique et hhistologique de l'infiltration lymphoïde de la maladie de Waldenström.

Actualités Hématologiques PARIS

2ème Série MASSON Edit. 1968

- FRUHLING L. - PORTH A. - ROGERS

La maladie de Waldenström - Etude d'un cas en microscopie optique et électronique

Ann. Ana. Path. 1960 5, 508 - 537

- C.V HARRISON

The morphology of the lymph node in the macroglobulinémia of Waldenström.

J. Clin. Path. 1972 25, 12

- KUHN Ch.

Nuclear bodies and intranuclear globulin inclusions in Waldenström 's macro-globulinémia.

Lab. Invest. 1967 17, 4, 404 - 415

- LEHLBACH W.K.

Ein Beitrag zur Morphologie der Makroglobulinamie Waldenström.

Frankfurt Ztschr. Path.
1957 68, 440 - 464

- MELLORS R.C. - NOWOSLAWSKI A. - KORNGOLD L.

Rheumatoïd arthritis and the cellular arigin of rheumatoid factors.

Ann. J. Path. 1961 3q, 533

- OETTGEN H.F. - QUITMANN K.

Weitere Untersuchungen zur Morphologie der Makroglobulinamie Waldenström.

Frankfurt Ztschr. Path.
1956 67, 599 - 621

- OLMER J. - HONGIN M. - MURATORE R. - DENIZET D.

Myelomes, macro-globulinémies et dysglobulinémies voisines

1 vol. Masson et Cie Edit. Paris 1961

- PARASKEVAS F. - HEREMANS J. - WALDENSTROM J. -

Cytology and electrophoretic pattern in α in IA (B2 A) myeloma.

Acta Medica Scand 1961 170 - 575

- PREUD'HOMME J.L - HUREZ D. - SELIGMAN M.

Immunofluorescence studies in Waldesntröm macroglobulinémia.

Rev. Europ. Etuds Clin. et Biol.
1970 XV 1127 - 1131

- RAPPAPORT H.

Tumors of the hematopietic system Atlas of tumors pathology Sect III - F - 8.

Armed Forces Institute of Pathology
ler vol. 1966 213 - 217

- RAUBER G. - MARTIN M.E - MACHOT C.

La maladie de Waldenström - Etude particulière des manifestations viscérales.

Ann. Ana. Path. 1963 8, 1, 159 - 194

- SCHAMAUN M.

Zur pathologischen Anatomie des zog Makroglobulinamie Waldenström.

Schweiz Stschr. Allg Path.
1954 17, 25 - 46

- THIERY J.P

Etude sur le plasmocyte à l'état vivant. Excrétion de vacuoles d'origine nucléaire.

Rev. Hémat. 1957 12, 211 - 218

- WALDENSTROM Jan

Incipient myelomaties or essential hyperglobulinémia with fibrinogenopenia - a new syndrom ?

Acta. Med. Scand 1944 117, 216 - 247

- ZOLLINGER U.

Die pathologische anatomie des Morbus Waldenström.
Helvet. Med. Acta. 1958 25, 153 - 183